



Utilização do Isótopo ^{15}N
para Determinação do
Nitrogênio Subterrâneo
em Soja

República Federativa do Brasil

Luiz Inácio Lula da Silva

Presidente

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Roberto Rodrigues

Ministro

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa

Conselho de Administração

José Amauri Dimárzio

Presidente

Clayton Campanhola

Vice-Presidente

Alexandre Kalil Pires

Dietrich Gerhard Quast

Sérgio Fausto

Urbano Campos Ribeiro

Membros

Diretoria Executiva da Embrapa

Clayton Campanhola

Diretor Presidente

Gustavo Kauark Chianca

Herbert Cavalcante de Lima

Mariza Marilena T. Luz Barbosa

Diretores Executivos

Embrapa Agrobiologia

José Ivo Baldani

Chefe Geral

Eduardo Francia Carneiro Campello

Chefe Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento

Rosângela Stralotto

Chefe Adjunto Administrativo

ZOTARELLI, L. **Balanço de nitrogênio na rotação de culturas em sistemas de plantio direto e convencional na região de Londrina-PR.** 2000. 128 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Ciência do Solo) - Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro Nacional de Pesquisa em Agrobiologia
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

*ISSN 1517-8498
Dezembro/2004*

Documentos 186

Utilização do Isótopo ^{15}N para Determinação do Nitrogênio Subterrâneo em Soja

Ednaldo da Silva Araújo
Segundo Urquiaga
Robert Michael Boddey
Bruno José Rodrigues Alves

Seropédica – RJ

2004

Exemplares desta publicação podem ser adquiridas na:

Embrapa Agrobiologia

BR465 – km 7

Caixa Postal 74505

23851-970 – Seropédica/RJ, Brasil

Telefone: (0xx21) 2682-1500

Fax: (0xx21) 2682-1230

Home page: www.cnpab.embrapa.br

e-mail: sac@cnpab.embrapa.br

Comitê Local de Publicações: Eduardo F. C. Campello (Presidente)
José Guilherme Marinho Guerra
Maria Cristina Prata Neves
Verônica Massena Reis
Robert Michael Boddey
Maria Elizabeth Fernandes Correia
Dorimar dos Santos Felix (Bibliotecária)

Expediente:

Revisores e/ou ad hoc: Norma G. Rumjanek e Maria Cristina Prata Neves

Normalização Bibliográfica: Dorimar dos Santos Félix

Editoração eletrônica: Marta Maria Gonçalves Bahia

1ª impressão (2004): 50 exemplares

A663u ARAÚJO, Ednaldo da Silva.

Utilização do Isótopo ¹⁵N para Determinação do Nitrogênio Subterrâneo em Soja / Segundo Urquiaga, Robert Michael Boddey, Bruno José Rodrigues Alves. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2004. 16 p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 186).

ISSN 1517-8498

1. Soja. 2. Isótopo. 3. Planta oleaginosa. I. Urquiaga, Segundo. II. Boddey, Robert Michael. III. Alves, Bruno José Rodrigues. IV. Embrapa. Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiologia (Seropédica, RJ). V. Título. VI. Série.

CDD 583.74

RAMOS, M. G.; VILLATORO, M. A. A.; URQUIAGA, S.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M. Quantification of the contribution of biological nitrogen fixation to tropical green manure crops and the residual benefit to a subsequent maize crop using ¹⁵N-isotope techniques. **Journal of Biotechnology**, Sevilla, v. 91, p. 105-115, 2001.

ROCHESTER, I. J.; PEOPLES, M. B.; CONSTABLE, G. A.; GAULT, R. R. Faba beans and other legumes add nitrogen to irrigated cotton cropping systems. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v.38, p. 253–260, 1998.

RUSSELL, C. A.; FILLERY, I. R. P. In situ ¹⁵N labelling of Lupin below-ground biomass. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 47, p. 1035-1046, 1996a.

RUSSELL, C. A.; FILLERY, I. R. P. Estimates of below-ground biomass nitrogen, dry matter, and nitrogen turnover to wheat. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 47, p.1047-1059, 1996b.

SOUTO, C. M.; ROMANO, M. R.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R. M. Acumulação de matéria seca, N, P e K por cana de açúcar (cv. SP 70-1143). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 24, 1993, Goiânia, GO. **Resumos...** Goiânia: SBCS, 1993. v. 2. p. 239-240.

VILLATORO, M. A. A. **Contribuição da adubação verde como fonte de nitrogênio para as culturas de milho e sorgo**. 2000. 110 p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

WACQUANT, J. P.; OUKNIDER, M.; JACQUARD, P. Evidence for a periodic excretion of nitrogen by roots of grass-legume associations. **Plant and soil**, Dordrecht, v. 116, p. 57-68, 1989.

WETSELAAR, R.; FARQUHAR, G. D. Nitrogen losses from tops of plants. **Advances in Agronomy**. Madison, v. 33, p. 263-302, 1980.

KEITH, H.; OADES, J. M.; MARTIN, J. K. Input of C to soil from wheat plant. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.18, p.445-449, 1986.

KHAN, D. F.; PEOPLES, M. B.; CHALK, P. M.; HERRIDGE, D. F. Quantifying below-ground nitrogen of legumes. 2. A comparison of ^{15}N and non isotopic methods. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 239, p. 277–289, 2002b.

KHAN, D. F.; PEOPLES, M. B.; HERRIDGE, D. F. Quantifying below-ground nitrogen of legumes. 1. Optimising procedures for ^{15}N shoot-labelling. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 245, p. 327-334, 2002a.

KHAN, F. D.; PEOPLES, M. B.; SCHWENKE, G. D.; FELTTON, W. L.; CHEN, D.; HERRIDGE, D. F. Effects of below-ground nitrogen on N balances of field-grown fababean, chickpea, and barley. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 54, p. 333 – 340, 2003.

MAYER, J.; BUEGGER, F.; JENSEN, E. S.; SCHLOTTER, M.; HEB, J. Estimating N rhizodeposition of grain legumes using ^{15}N in situ stem labeling method. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 35, p. 21-28, 2003.

MCNEILL, A. M.; ZHU, C.; FILLERY, I. R. P. Use of in situ ^{15}N -labelling to estimate the total below-ground nitrogen of pasture legumes in intact soil-plant systems. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 48 p. 295-304, 1997.

PEOPLES, M. B.; HERRIDGE, D. F. Quantification of biological nitrogen fixation in agricultural systems. In: PEDROSA, F. O.; HUNGRIA, M.; YATES, G.; NENTON, W. E., (Ed.). **Nitrogen fixation: from molecules to crop productivity**; proceedings of the 12th International Congress on Nitrogen Fixation, Foz do Iguaçu, Paraná, 1999. Dordrecht: Kluwer, 2000. p. 519-524.

Autores

Ednaldo da Silva Araújo

Eng. Agrônomo, MSc. em Ciência do Solo, bolsista da Embrapa Agrobiologia/UFRRJ
BR 465, km 7 – Caixa Postal 74505, Cep 23851-970, Seropédica/RJ
e-mail: ednaldo@ufrj.br

Segundo Urquiaga

Eng. Agrônomo, PhD em Ciência do Solo, Pesquisador da Embrapa Agrobiologia.
BR 465, km 7 – Caixa Postal 74505, Cep 23851-970, Seropédica/RJ
e-mail: urquiaga@cnpab.embrapa.br

Robert Michael Boddey

Químico Agrícola, PhD em Ciência do Solo, Pesquisador da Embrapa Agrobiologia.
BR 465, km 7 – Caixa Postal 74505, Cep 23851-970, Seropédica/RJ
e-mail: bob@cnpab.embrapa.br

Bruno José Rodrigues Alves

Eng. Agrônomo, PhD em Ciência do Solo, Pesquisador da Embrapa Agrobiologia.
BR 465, km 7 – Caixa Postal 74505, Cep 23851-970, Seropédica/RJ
e-mail: bruno@cnpab.embrapa.br

4. Conclusão

A técnica de marcação foliar com ^{15}N tem potencial para quantificação do N subterrâneo na cultura da soja. Entretanto, são necessários maiores estudos em condições controladas para ajustar a dose a ser aplicada, o número de aplicações e a época de cada aplicação, visando, desta forma, manter uma marcação uniforme durante o desenvolvimento da planta e evitar uma possível exsudação provocada pelo processo de marcação.

5. Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio financeiro da Embrapa Agrobiologia, UFRRJ, CAPES e IAEA, para realização deste trabalho.

6. Referências Bibliográficas

ARAÚJO, E. S. **Estimativa da quantidade de N acumulada pelo sistema radicular da soja e sua importância para o balanço de N do Solo**. 2004. 72 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Ciência do Solo) - Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

AYERS, W. A.; THORNTON, R. H. Exudation of amino acids by intact and damaged roots of wheat and peas. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 28. p. 193-206, 1968.

HALE, M. G.; MOORE, L. D.; GRIFFIN, G. J. Root exudates and exudation. In: DOMMERGUES, Y. R.; KRUPA, S. V. (Ed.). **interactions between non-pathogenic soil microorganisms and plants**. Amsterdam: Elsevier, 1978. p. 163-203.

HOGH-JENSEN, H.; SCHJOERRING, J. K. Rhizodeposition of by red clover, white clover and ryegrass leys. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 33, p. 439-448, 2001.

JENSEN, E. S. Rhizodeposition of N by pea and barley and its effect on soil N dynamics. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 28. p.65-71, 1996.

Considerando apenas a última aplicação (0,69 mL a 3% de uréia) temos 9,31 mg de ^{15}N por planta, valor muito superior ao exemplo anterior. Estes últimos autores calcularam a quantidade de ^{15}N a ser aplicada de forma a manter as plantas durante todo o período de crescimento com um enriquecimento de 2,5% de ^{15}N em excesso. Visando, desta forma, compensar o efeito da diluição do ^{15}N no N da planta.

Mcneill et al. (1997) utilizaram na marcação de *Trifolium subterraneum* L. e *Ornithopus compressus* L. uma única dose de 1 mL da solução uréia (99 % átom. ^{15}N exc.), enquanto que Hogh-Jensen & Schjoerring (2001), utilizaram para marcação de *Trifolium repens* L. e *Trifolium pratense* L. uma solução idêntica a descrita acima, porém realizaram de 3-5 aplicações.

Outras doses têm sido recomendadas com o objetivo de minimizar as perdas durante o processo de marcação. Khan et al. (2002b), sugerem que a marcação da planta com pequenas doses (0,2 mL) é mais eficiente que a marcação com 1 mL, pois a dose de 0,2 mL é absorvida em até 3 h, enquanto que a de 1 mL necessita de aproximadamente 3 dias para completa absorção, com isso pode ocorrer maior estresse à planta e, conseqüentemente reduzir a eficiência da marcação.

Conforme exposto acima, a utilização de ^{15}N para determinação do N subterrâneo é uma técnica relativamente nova e que, ainda, apresenta várias limitações. Antes de se assegurar qual a contribuição do N subterrâneo em relação ao N total da planta, é necessário ajustar a técnica para cada situação e para cada cultura. Sem dúvida a maior limitação da técnica é a falta de homogeneidade de marcação da planta durante o período de crescimento, no entanto é fundamental considerar a dose aplicada, uma vez que, resultados obtidos por Araújo (2004), sugerem que a dose de 1 mL da solução com ^{15}N fornecida à planta, em cada marcação, pode favorecer uma exsudação radicular forçada e com isso mascarar os resultados encontrados para o N de raízes não recuperadas (NRnr).

Apresentação

A preocupação crescente da sociedade com a preservação e a conservação ambiental tem resultado na busca pelo setor produtivo de tecnologias para a implantação de sistemas de produção agrícola com enfoques ecológicos, rentáveis e socialmente justos. O enfoque agroecológico do empreendimento agrícola se orienta para o uso responsável dos recursos naturais (solo, água, fauna, flora, energia e minerais).

Dentro desse cenário, a Embrapa Agrobiologia orienta sua programação de P&D para o avanço de conhecimento e desenvolvimento de soluções tecnológicas para uma agricultura sustentável.

A agricultura sustentável, produtiva e ambientalmente equilibrada apoia-se em práticas conservacionistas de preparo do solo, rotações de culturas e consórcios, no uso da adubação verde e de controle biológico de pragas, bem como no emprego eficiente dos recursos naturais. Infere-se daí que os processos biológicos que ocorrem no sistema solo/planta, efetivados por microrganismos e pequenos invertebrados, constituem a base sobre a qual a agricultura agroecológica se sustenta.

O documento 186/2004 discute a utilização do isótopo ^{15}N para a determinação do nitrogênio considerado subterrâneo na cultura da soja. Um dos principais problemas para qualificar o N acumulado pelo sistema radicular é que não é possível recuperar 100% das raízes existentes no solo e, portanto, métodos que utilizam isótopos têm merecido a atenção. O documento discute as limitações da técnica de marcação dos tecidos foliares da planta durante o período de crescimento e enfatiza a necessidade de pesquisas adicionais em condições controladas para ajustar a época, a dose e o número de aplicações visando obter uma marcação uniforme, evitando assim uma possível exsudação do N marcado.

José Ivo Baldani

Chefe Geral da Embrapa Agrobiologia

SUMÁRIO

1. Introdução	7
2. Exsudação de N pelo sistema radicular	8
3. Técnicas de marcação de plantas com ¹⁵ N para determinação do N subterrâneo	9
4. Conclusão	13
5. Agradecimentos	13
6. Referências Bibliográficas.....	13

Como mostra a tabela 1, para uma mesma cultura ainda não existe um consenso sobre quanto representa o NR_{nr} em relação ao N total da planta. Esse valor pode variar de 7 a 13 % para ervilha (Jensen, 1996, Mayer et al., 2003), e de 13 a 23 % para feijão fava (Mayer et al., 2003, Khan et al., 2002b). As condições nas quais a planta foi desenvolvida pode interferir nessa estimativa, no entanto é importante lembrar que as condições de marcação da planta, como estágio fenológico, dose de ¹⁵N aplicada, número de aplicações, entres outros fatores, podem afetar a exatidão na estimativa e, com isso, proporcionar uma sub ou superestimativa do NR_{nr}.

Khan et al. (2002a) estudaram o efeito da concentração de uréia na solução sobre o surgimento de necrose na folha e o enriquecimento das raízes, constataram que há um incremento no enriquecimento das raízes com o aumento da concentração, no entanto, a concentração de 0,5% (v/v) permite uma marcação segura sem aparecimento de necrose na folha. Outras concentrações de uréia têm sido utilizadas, por exemplo, McNeill et al. (1997) utilizaram solução de uréia em concentrações igual a 0,25 e 0,4 % para marcação foliar de algumas espécies leguminosas. Rochester et al. (1998) usaram uma concentração de 0,9% para marcação foliar da soja. Maiores concentrações foram utilizadas por Mayer et al. (2003), estes autores, visando manter uma marcação uniforme durante o crescimento da planta, utilizaram concentrações entre 1 e 3%, dependendo da época de marcação.

Além da concentração, a quantidade de ¹⁵N, o número de aplicações e a época de marcação, variam amplamente entre os diferentes autores. Por exemplo, Khan et al. (2002b), utilizando seis plantas de feijão fava ou grão-de-bico em vaso contendo 22 kg da mistura solo+areia (50:50), aplicaram 0,6 mL de solução de uréia a 0,5% (uréia com 98 % átom. ¹⁵N exc.), dividido em 3 vezes de 0,2 mL, totalizando 1,35 mg de ¹⁵N por planta e 8,11 mg de ¹⁵N por vaso, sendo a primeira marcação realizada aos 45 dias após o plantio. Enquanto que Mayer et al. (2003), utilizando 4 plantas de feijão fava em vaso contendo 11 kg de solo (Cambissolo eutrófico), aplicaram solução de ¹⁵N-uréia (uréia com 99 % átom. ¹⁵N exc.), em doses variando entre 0,24 e 0,69 mL, em quatro aplicações.

nas raízes no momento da amostragem, mas também o N de raízes não recuperadas (NRnr) ou seja, o N do solo proveniente do sistema radicular na forma de exsudados, raízes mineralizadas ou raízes finas, não passíveis de recuperação mecânica.

Quanto à quantificação do N derivado do sistema radicular de leguminosas, incluindo o NRnr, vários trabalhos têm sido realizados através do uso do isótopo ^{15}N e sugerem uma participação significativa deste compartimento em relação ao N total acumulado pela planta (Tabela 1).

A estimativa do NRnr é calculada de acordo com a equação abaixo,

$$NRnr = \frac{15N_{solo}}{15NRR}$$

Onde, $15N_{solo}$ é a quantidade de ^{15}N em excesso (mg) encontrado no solo e $15NRR$ é a quantidade de ^{15}N em excesso em cada grama de N das raízes recuperadas.

Ou pela equação:

$$NRnr = \left(\frac{15N_{solo}}{15N_{exc.raiz}} \right) * 100$$

Onde, $15N_{exc.raiz}$ é a percentagem de átomos de ^{15}N em excesso nas raízes recuperadas.

Tabela 1. Relação do N derivado das raízes não recuperadas (NRnr) de leguminosas em relação ao N total acumulado pela planta.

Culturas	NRnr (%)	Autores
Ervilha (<i>Pisum sativum</i> , L.)	7;13	Jensen (1996); Mayer et al. (2003).
Tremoço branco (<i>Lupinus albus</i>)	18	Mayer et al. (2003)
Feijão fava (<i>Vicia faba</i>)	13; 23	Mayer et al. (2003); Khan et al. (2002b).
Grão-de-bico (<i>Cicer arietinum</i>)	43; 75	Khan et al (2002b); Khan et al. (2003).
Mucuna cinza (<i>Mucuna</i> sp.)	14	Ramos et al. (2001).
Feijão de porco (<i>Canavalia ensiformis</i> , L.)	10	Ramos et al. (2001).

Utilização do Isótopo ^{15}N para Determinação do Nitrogênio Subterrâneo em Soja

Ednaldo da Silva Araújo
Segundo Urquiaga
Robert Michael Boddey
Bruno José Rodrigues Alves

1. Introdução

Estudos para quantificação do nitrogênio acumulado pelo sistema radicular ainda são limitados. A razão principal é de aspecto metodológico. Os métodos diretos, por exemplo, a escavação para coleta de raízes e determinação do teor de N têm sido amplamente utilizados pelos pesquisadores, entretanto, sua eficiência é contestada (Russell & Fillery, 1996ab; Mcneill et al., 1997; Khan et al., 2002a), por considerar apenas o N presente nas raízes visíveis, ignorando o N do solo derivado das raízes, tanto em forma de raízes remanescentes (fragmentos radiculares não recuperados), como proveniente de exsudados e raízes mineralizadas durante o desenvolvimento da planta.

É perfeitamente aceitável a idéia de que, durante o processo de peneiramento, não seja possível recuperar 100% das raízes existentes no solo e, por isso, o método tradicional deve subestimar o total de N existente nas raízes. No entanto, a maior dificuldade é estimar quanto se perde no processo. A dificuldade na contabilidade do N derivado de exsudados e da mineralização de raízes é ainda maior. Em gramíneas, como trigo (Zotarelli, 2000) e cana-de-açúcar (Souto et al., 1993), foi observado que durante o desenvolvimento das plantas, cerca de 20 a 30% do N acumulado até o final do ciclo vegetativo não é mais contabilizado na planta na ocasião da colheita, ainda que sejam incluídas as folhas senescentes. Embora grande parte das perdas seja explicada pela volatilização de amônia através das folhas, é possível que processos como exsudação de N e mineralização de raízes sejam de grande importância para explicar o balanço de N das plantas (Wetselaar & Farquhar, 1980).

Assim, pesquisas baseadas no uso do isótopo ^{15}N podem contribuir para melhor quantificação do N subterrâneo (Mcneill et al., 1997, Peoples & Herridge, 2000), por permitir uma estimativa do N derivado das raízes não recuperáveis pelo método tradicional, escavação e peneiramento.

2. Exsudação de N pelo sistema radicular

A contribuição dos exsudados radiculares no fornecimento de N ao solo ainda não é suficientemente conhecida. É possível que a exsudação de N seja influenciada por diversos fatores, entre eles: espécie cultivada, a oferta de N à planta, estágio fenológico da cultura, estresses hídricos, temperatura e danos físicos.

Os danos causados no sistema radicular podem ser responsáveis pela maior parte das substâncias orgânicas liberadas durante o crescimento da planta. A quantidade de aminoácidos provenientes de exsudados radiculares de plantas de trigo cultivadas em solução nutritiva, após 14 dias, não foi sensível ao teste de cromatografia, indicando uma quantidade inferior a 3 mg por 15 plantas. Já a ervilha, cultivada nas mesmas condições, apresentou de 2 a 7 mg de N-aminoácidos por planta (Ayers & Thornton, 1968). Quando estes autores ocasionaram danos às raízes, estas apresentaram, em uma hora, exsudação de 73 a 120 % superior à exsudação normalmente observada em um período de duas semanas.

A exsudação de N pelo sistema radicular pode ser influenciada pela taxa de oxigênio e dióxido de carbono presentes na rizosfera (Ayers & Thornton, 1968), e estimulada, no caso de leguminosas, pelo consórcio com gramíneas (Wacquant et al., 1989). De acordo com resultados obtidos por estes últimos autores, o enriquecimento de nitrato observado na solução nutritiva, derivado do sistema radicular de leguminosas, ocorre principalmente à noite, provavelmente por ser um período de menor transpiração.

Outros estudos têm mostrado que ocorre um enriquecimento significativo de C e N na rizosfera durante o crescimento das plantas (Keith et al., 1986, Jensen, 1996). Esses elementos são derivados de células mortas e mineralizadas e da exsudação por células

intactas. Os exsudados das leguminosas contêm mais N-aminoácidos que exsudados de plantas não leguminosas (Hale et al., 1978), e esse é um dos fatores que contribui para aumentar a disponibilidade de N em solos após o cultivo de leguminosas.

A exsudação de N pelo sistema radicular da soja pode ter participação significativa na determinação do balanço de N nessa cultura. Entretanto, como discutido acima, essa contribuição é dependente de vários fatores e precisa ser melhor estudada.

3. Técnicas de marcação de plantas com ^{15}N para determinação do N subterrâneo

Recentes pesquisas baseadas em técnicas com uso do isótopo ^{15}N sugerem que o balanço de N para os sistemas agrícolas tem sido subestimado, principalmente quando se contabiliza a contribuição da fixação biológica de N_2 através de leguminosas (Peoples & Herridge, 2000). A quantificação do total de N acumulado pelas culturas, freqüentemente não leva em consideração o N acumulado nas raízes, ou estas são parcialmente contabilizadas.

Para algumas leguminosas, a contribuição do sistema radicular tem sido subestimadas a valores de 10 a 15% do total de N acumulado pela planta (Peoples & Herridge, 2000). A marcação do sistema radicular através do uso do isótopo ^{15}N tem sido proposta para estimar o total de N acumulado neste compartimento, e tem demonstrado que a quantidade de N nas raízes pode representar de 21 a 40% do N total na planta de leguminosas cultivadas (Mcneill et al., 1997; Villatoro, 2000, Khan et al., 2002b; Araújo, 2004). Esta técnica tem a premissa de que o isótopo ^{15}N , fornecido através das folhas ou do caule da planta, distribui-se uniformemente em todo o sistema radicular e que qualquer enriquecimento de ^{15}N acima da abundância natural encontrado no solo, provém das raízes marcadas, sendo possível fazer uma estimativa da contribuição total do N derivado do sistema radicular (Russell & Fillery, 1996a).

A técnica de marcação foliar com ^{15}N é de fácil utilização, com potencial para estudos de quantificação do nitrogênio das partes subterrâneas, pois permite quantificar não somente o N presente